Aus der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. H. A. K Ü H N

Enzymänderungen der Aspartat - Aminotransferase und der Alanin - Aminotransferase bei Ratten nach Telekobalt- und Röntgenbestrahlung.

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius - Maximilians - Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
vorgelegt von
Helga Möll
aus München
Würzburg 1970

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. H. A. K Ü H N

Enzymänderungen der Aspartat - Aminotransferase und der Alanin - Aminotransferase bei Ratten nach Telekobalt- und Röntgenbestrahlung.

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius - Maximilians - Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
vorgelegt von

Helga Möll
aus München

Würzburg 1970

Referent: Professor Dr. med. H. Braun

Korreferent: Professor Dr. med. H. A. Kühn

Tag der Promotion:

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg

Enzymänderungen der Aspartat - Aminotransferase und der Alanin - Aminotransferase bei Ratten nach Telekobalt- und Röntgenbestrahlung.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543520_0077

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
1. Einleitung	2
2. A Material	5
B Methodik	6
I. Bestrahlung	6
II. Enzyme	7
3. Ergebnisse	13
Aspartat - Aminotransferase	
1. Normalwert	13
2. Nach Röntgenbestrahlung	13
3. Nach Telekobaltbestrahlung	14
Alanin - Aminotransferase	
1. Normalwerte	15
2. Nach Röntgenbestrahlung	16
3. Nach Telekobaltbestrahlung	16
Tabellen	18
Abbildungen	22
4. Diskussion	30
5. Zusammenfassung	34
6. Literatur	35

EINLEITUNG

Ionisierende Strahlen finden in Diagnostik und Therapie eine stets zunehmende Verwendung und ihre Wirkung auf den lebenden Organismus damit ein starkes Interesse. Von besonderer Wichtigkeit ist dabei, welchen Einfluß diese Strahlen auf den intrazellulären Enzymmechanismus ausüben, denn der ungestörte Ablauf der intrazellulären Stoffwechselreaktionen wird nur durch einen intakten Enzymbestand gewährleistet. Treten nach Anwendung ionisierender Strahlen enzymbedingte Änderungen im Intermediärstoffwechsel auf, so müßte es durch gleichzeitige Bestimmung von Enzymaktivitäten im intra- und extrazellulären Raum gelingen, diese zu erfassen und quantitativ zu bestimmen.
Außerdem ist nach einer Bestrahlung eine Veränderung des Enzymspiegels zu erwarten, da nach einer derartigen Noxe bekanntlich disseminierte Zelläsionen auftreten. Hierdurch müßte eine vermehrte Ausschwemmung von Enzymen in den extrazellulären Raum erfolgen. Dies ist umso eher anzunehmen, da bei einer Anzahl von Erkrankungen, die mit einem Zelluntergang einhergehen, Änderungen der Enzymaktivitäten gefunden wurden. So berichten WROBLEWSKI, KARMEN und LA DUE über Erhöhungen der Aspartat - Aminotransferase [1] und Alanin - Aminotransferase[2] sowie etwas später über einen Anstieg der Lactatdehydrogenase (LDH)

---

frühere Bezeichnung:
1) Glutamat - Oxalat - Transaminase (GOT)
2) Glutamat - Pyruvat - Transaminase (GPT)

bei Herzinfarkten und bei Hepatitiden. Auch GERLACH, E. SCHMIDT, F. W. SCHMIDT und WILDHIRT fanden Aktivitätsänderungen der Sorbitdehydrogenase bei Leberparenchymschäden und BRUNS und JAKOB stellten Änderungen des Spiegels der Fruktose- 1,6 - Diphosphat-Aldolase im Serum und REICHARD Alterationen der Ornithin-Carbamyl-Transferase bei Leberparenchymschäden fest. Analog hierzu finden wir bei dem mit Zellnekrosen einhergehenden Herzinfarkt einen Anstieg der Kreatinphosphokinase wie von COLOMBO, RICHTERICH und ROSSI, DREYFUS und SCHAPIRA, FORSTER und ESCHER sowie STICH und TSIRIMBAS berichtet wird.

Tierexperimentelle Untersuchungen über die Einwirkung ionisierender Strahlen auf Enzymaktivitäten wurden von verschiedenen Autoren durchgeführt. So berichten BRENT, Mc LAUGHLIN und STABILE über den Bestrahlungseffekt auf die Aspartat - Aminotransferase, MILCH und ALBAUM Aminotransferaseaktivitäten bei röntgenbestrahlten Kaninchen. Auch OSWALD, GÜNTHER und LORENZ stellten Aktivitätserhöhungen der LDH, Aspartat - Aminotransferase und Alanin - Aminotransferase im Serum bei Ratten nach Ganzkörperbestrahlung fest.

BRAUN, HORNUNG und HEISE berichten über Veränderungen der Leucin - Aminopeptidase, Aspartat - Aminotransferase und Alanin - Aminotransferase in Organhomogenaten bei röntgenganzkörperbestrahlten Mäusen. DIETHELM und

LORENZ stellten ebenfalls Enzymaktivitätserhöhungen bei Ratten nach 600-R-Ganzkörperbestrahlung und 10-tägiger Vorbestrahlung mit täglich 3 R fest.

Ausgangspunkt der vorliegenden Untersuchung war die Klärung der Frage, in wie weit sich Änderungen des Enzymspiegels nach Röntgenbestrahlung nachweisen lassen, in welchem Ausmaß und zu welchem Zeitpunkt sie stattfinden und an welchen Organen sich die Schäden vorwiegend manifestieren.

Da in neuerer Zeit neben der Röntgenbestrahlung auch die Telekobaltbestrahlung in der klinischen Therapie zunehmend Anwendung findet (KÄRCHER), war ein weiteres Ziel dieser Untersuchungen, festzustellen, in wie weit sich zwischen den beiden Bestrahlungsarten Unterschiede in den Enzymaktivitäten nachweisen lassen.

A MATERIAL

Für die Ermittlung der Enzymaktivitäten bei den einzelnen Bestrahlungsserien und den Kontrolltieren wurden 140 weiße Wistar-Ratten im Gewicht von etwa 220 g verwendet. Die Tiere bekamen eine "Rekord-Trockennahrung für Ratten und Mäuse"[1] und Wasser ad libitum. Die Tiere wurden in Sammeldrahtkäfigen gehalten und für die einzelnen Bestrahlungsserien wahllos dem Kontingent entnommen. Die Tiere wurden in Äthernarkose durch Herzpunktion entblutet, die Organe sofort entnommen, gewogen und gekühlt. Von jedem Organ wurde zur Herstellung des Stammhomogenats ein Teilstück im Gewicht von durchschnittlich 200 mg abgetrennt und mit 1 ml eisgekühlter NaCl-Lösung in ein Homogenisierungsglas gegeben. Im Potter-Elvehjem-Homogenisator wurde bei 3000 UpM etwa 2 Minuten lang unter Eiskühlung homogenisiert und mit physiologischer NaCL-Lösung 1 : 40 verdünnt. Das Homogenat wurde anschließend 10 Minuten lang bei 5000 UpM zentrifugiert und damit der Überstand vom Bodensatz getrennt. Dieses zellfreie Homogenat wurde anschließend aufgearbeitet. Zur Festlegung der Ausgangswerte der Aspartat - Aminotransferase und Alanin - Aminotransferase wurden bei 30 unbestrahlten Ratten in den Organen Leber, Milz, Herz und im Serum

---

1) Märkische Kraftfutterwerke, Berlin - Tempelhof

die Aktivitäten dieser zwei Fermente bestimmt. Bei den bestrahlten Tieren wurden die Enzymaktivitäten in zweitägigen Abständen nach der Bestrahlung, vom 2. -10. Tag gemessen.

B METHODIK

I. Bestrahlung

Die Bestrahlung erfolgte in Form einer Röntgen- bzw. Kobaltganzkörperbestrahlung mit einer Dosis von 600 R. Es wurden jeweils zwei Tiere in körpergerechten Plexiglaskäfigen der Bestrahlung ausgesetzt. Dabei waren folgende Apparatebedingungen gegeben:

Röntgenbestrahlung:

Röntgentiefentherapiegerät Therapix-C 250[1)]

220 kV, 15 mA

1,0 mm Cu-Filter = 1,65 mm HWS

Dosisleistung im Zentralstrahl (Tierachse) 48 R/min.

Fokus-Tier-Achsenabstand : 56 cm

Homogenität der Dosis im Tierkörper ± 5 %

Bestrahlungszeit für 600 R : 12 min. 30 sec.

Telekobaltbestrahlung:

Telekobaltgerät Theratron junior [2)]

Quelle 3000 C

Dosisleistung im Zentralstrahl (Tierachse) 52 R/min.

Fokus-Tier-Achsenabstand : 90 cm

---

1) Firma Koch & Sterzel KG, Essen

2) Firma Atomic Energy of Canada Ltd.

Homogenität der Dosis im Tierkörper ± 3 %

Bestrahlungszeit für 600 R : 11 min. 32 sec.

Bei Telekobalt wurde der Aufbaueffekt durch die Unterbringung der Tiere in einem Plexiglaskäfig mit einer Wanddicke von 4 mm ausgeschaltet. Die Dosismessungen erfolgten mit einem Simplex-Dosimeter der PTW Freiburg mit einer 1 R Schlauchkammer im Wasserphantom. Sie wurden kontrolliert mit einem Siemens Universaldosimeter.

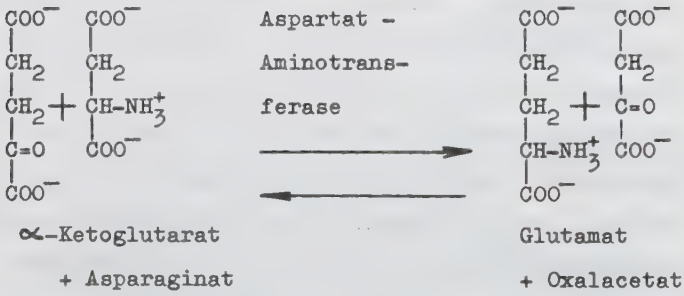
II. Enzyme

Enzyme sind hochmolekulare Eiweißstoffe, die aus einem Apoenzym - dem Protein - und dem Coenzym - der prosthetischen Gruppe - bestehen. Sie sind die Katalysatoren der lebenden Zelle. Man kann zwischen gewebsspezifischen Enzymen und solchen aus den Hauptketten des Stoffwechsels unterscheiden. Für die klinische Enzymdiagnostik spielen die Enzyme der zweiten Gruppe eine entscheidende Rolle. Sie entstammen zumeist dem Protein- und Kohlenhydratstoffwechsel. Da die meisten Enzymmoleküle in kurzer Zeit große Reaktionsumsätze ermöglichen, können auch Aktivitäten kleinster Enzymmengen festgestellt werden. Die quantitative Bestimmung der hier untersuchten Aminotransferasen erfolgte mit Hilfe des optischen Testes, der auf der Tatsache beruht, daß das reduzierte Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid (NADH) bei 340 mμ ein breites Absorptionsmaximum aufweist, welches sich beim Übergang in die oxydierte Form NAD^+

verliert. Dadurch läßt sich in einem Photometer bei dieser Wellenlänge die Lichtabsorptionsänderung pro Zeiteinheit und somit die Aktivität des die Reaktion katalysierenden Enzymes bestimmen, da das NADH sich als Cosubstrat des jeweiligen Enzymes diesem gegenüber stöchiometrisch verhält.

1.) Aspartat - Aminotransferase:

Die Aspartat - Aminotransferase katalysiert die Umsetzung von Asparaginsäure zu Oxalacetat, das in einer zweiten, sogenannten Indikatorreaktion nach Zugabe von Malat-Dehydrogenase (MDH) zu Malat reduziert wird unter gleichzeitiger Oxydation von NADH zu NAD^+:



∝-Ketoglutarat + Asparaginat — Glutamat + Oxalacetat

Zur Bestimmung der Aspartat - Aminotransferase wurde die Methode nach KARMEN, WROBLEWSKI und LA DUE mit einer standardisierten Testkombination durchgeführt (Firma Boehringer, Mannheim).

Folgende Reagenzien wurden dabei verwendet:

1.) 0,1 M Phosphatpuffer, pH = 7,4
    0,042 M L-Asparagin

2.) 0,012 M NADH

3.) 0,5 mg MDH/ml

4.) 0,2 M Ketoglutarat

Bestimmungsansatz:

In ein Reagenzglas mit 2,3 ml Phosphat-Asparaginat-Puffer werden 0,05 ml NADH pipettiert. Nach Zugabe von 0,05 ml der MDH-Lösung werden 0,5 ml Serum bzw. Stammhomogenat zugemischt. Nach einer Inkubationszeit von 5 Minuten bei 25° C in einem Wasserbad werden 0,1 ml Ketoglutaratlösung zugegeben und der Reagenzglasinhalt in eine leere 10 mm-Küvette gegossen. Nach einer Minute wird der Extinktionsabfall pro Minute in einem Eppendorf-Stufenphotometer bei 366 mμ im Verlauf von 5 Minuten verfolgt. Zeigen Extinktionsdifferenzen von über 0,03/min. eine sehr starke Enzymaktivität an, so wird mit Puffer entsprechend verdünnt. Da in den untersuchten Organhomogenaten sehr hohe Enzymaktivitäten vorliegen, ist es notwendig, die Stammhomogenate im voraus folgendermaßen zu verdünnen, um in den optimalen Extinktionsbereich zu gelangen:

Herz 1 : 50	Leber 1 : 30
Milz 1 : 20	Serum 1 : 2

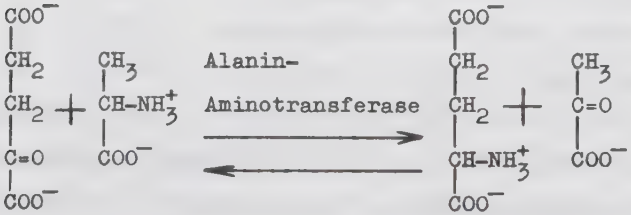
Anschließend wird die Enzymaktivität nach folgender Formel berechnet und in Internationalen Einheiten (IE) angegeben:

$$\frac{\text{E/min.}_{366m\mu}\text{/ml Serum x 911 x Verdünnung}}{\text{mg Feuchtgewicht}} = \text{IE}$$

1 IE ist nach der International Union of Biochemistry definiert als die Enzymmenge, die bei 25° C in einer Minute ein µMol Substrat/1000 ml umsetzt.

2.) Alanin - Aminotransferase:

Die Alanin - Aminotransferase überträgt die Aminogruppe des Alanins auf das Glutamat unter gleichzeitiger Bildung von Pyruvat, welches in einer NADH-verbrauchenden Indikatorreaktion mittels der Lactatdehydrogenase (LDH) zu Lactat reduziert wird:



α- Ketoglutarat + Alanin → Glutamat + Pyruvat

Zur Bestimmung der Alanin - Aminotransferase wurde die Methode nach WROBLEWSKI und LA DUE mit der genannten standardisierten Testkombination verwendet.

Folgende Reagenzien wurden dabei benötigt:

1.) 0,1 M Phosphatpuffer, pH = 7,4
    0,011 M DL-Alanin

2.) 0,012 M NADH

3.) 0,5 mg LDH/ml

4.) 0,2 M Ketoglutarat

Bestimmungsansatz:

In ein Reagenzglas mit 1,8 ml DL-Alanin-Puffer werden 0,05 ml NADH pipettiert. Nach Zugabe von 0,05 ml LDH-Lösung werden 1,0 ml des Serums bzw. des Stammhomogenats zugemischt. Nach einer Inkubationszeit von 5 Minuten bei 25° C in einem Wasserbad werden 0,1 ml Ketoglutaratlösung zugegeben und der Reagenzglasinhalt in eine 10 mm-Küvette gegossen. Nach einer Minute wird der Extinktionsabfall pro Minute in einem Eppendorf-Stufenphotometer bei 366 mμ im Verlauf von 5 Minuten verfolgt. Da in den einzelnen Organhomogenaten die Enzymkonzentrationen für einen optimalen Extinktionsbereich auch hier zu hoch liegen, werden folgende Verdünnungen des Stammhomogenats angesetzt:

Herz 1 : 20	Leber 1 : 20
Milz 1 : 5	Serum unverdünnt

Die Berechnung erfolgt wie bei der Aspartat - Aminotransferase (s.S.9).

Es erscheint zweckmäßig, als konstanten Bezugspunkt das Feuchtgewicht anstatt des von anderen Autoren

bevorzugten Gesamteiweißes zu wählen, denn die Ergebnisse von HÖHNE, JASTER und KUNKEL, HINZ und KESSEL, STENDER und ELBERT, WINKLER und PASCHE, BETZ, RAPPOPORT, ANDREWS und BRACE zeigen, daß das Gesamteiweiß in den ersten 12 Tagen post radiationem erheblichen Schwankungen unterworfen ist. Hierdurch erscheint es nicht mehr gerechtfertigt, das Gesamteiweiß als von der Bestrahlung unabhängige Konstante zugrunde zu legen. Die statistischen Berechnungen werden nach dem F-Test von FISCHER und dem t-Test nach STUDENT durchgeführt:

$$F_{emp.} = \frac{\sum x_i^2 - \frac{(\Sigma x_i)^2}{n}}{n-1} \qquad \frac{\sum y_i^2 - \frac{(\Sigma y_i)^2}{n}}{n-1}$$

Dabei wird jeweils der größere durch den kleineren Wert geteilt.

$$t_{emp.} = \frac{|\bar{x} - \bar{y}|}{\sqrt{6_{\bar{x}}^2 - 6_{\bar{y}}^2}}$$

$$\text{Streuung: } 6_x = \sqrt{\frac{\sum x^2 - \frac{(\Sigma x)^2}{n}}{n-1}}$$

Es bedeuten: n = Anzahl der Tiere

$\bar{x}$ = Mittelwert der Kontrolltiere

$\bar{y}$ = Mittelwert der bestrahlten Tiere

6 = Mittlere Streuung

Bei der Auswertung der statistischen Berechnungen wird eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % angenommen.

ERGEBNISSE

Von den insgesamt 140 bestrahlten Tieren konnten 119 für die Untersuchungen verwendet werden, da 21 Tiere vor dem Zeitpunkt der jeweiligen Enzymbestimmung ad exitum gekommen waren.

Aspartat - Aminotransferase

1.) Ausgangswerte der unbestrahlten Tiere

Im Serum unbestrahlter Ratten fand sich eine Aspartat - Aminotransferase-Aktivität von 45 IE ± 12,8.
Beim Vergleich der Enzymaktivitäten in den einzelnen Organen ergab sich bei den unbestrahlten Tieren die höchste Aktivität im Herzen mit 194 IE ± 18,3, die geringste in der Milz mit 17 IE ± 3,3.
Der Mittelwert der Leberhomogenate lag bei 63 IE ± 12,2. Das Verhältnis der Aktivitäten betrug etwa:

Herz : Leber : Serum : Milz = 11 : 3,5 : 2,5 : 1
(Tab. I und II)

2.) Nach Röntgenganzkörperbestrahlung lagen die Aspartat - Aminotransferase-Aktivitäten in den Herzhomogenaten an allen Untersuchungstagen unter dem Ausgangswert. Signifikante Erniedrigungen konnten am 4. und 8. Tag ermittelt werden (Tab. I, Abb. Ia).

In der Leber fand sich in den ersten Tagen nach der Bestrahlung ein Anstieg der Aspartat - Aminotransferase. Die Erhöhung konnte am 4. Tag statistisch gesichert werden. Danach erfolgte ein steiler Abfall, der am 8. Tag signifikant wurde. Bis zum 10. Tag zeigte sich ein geringer Anstieg der Enzymaktivitäten, der jedoch deutlich unter dem Ausgangswert lag (Tab.I, Abb.IIa).

Die Enzymwerte in der Milz lagen bis zum 6. Tag nach Bestrahlung etwa beim Ausgangswert. An den darauffolgenden Untersuchungstagen erfolgte ein Anstieg der Aspartat - Aminotransferase, der am 10. Tag statistisch gesicherte Ergebnisse erreichte (Tab.I,Abb.IIIa).

Die Veränderungen des Serumenzymgehaltes waren sehr unterschiedlich. Ein zunächst deutlicher Abfall ließ sich wegen der Streuung der Werte statistisch nicht sichern. Dagegen war die Erhöhung am 8. Tag und die Erniedrigung am 10. Tag signifikant (Tab.I,Abb.IVa).

3.) Nach Telekobaltganzkörperbestrahlung fiel die Aspartat - Aminotransferase in den Herzhomogenaten am 2. Tag zunächst gering ab, stieg dann aber bis zum 4. Tag hin signifikant an. Am 6., 8. und 10. Tag zeigten die Aktivitäten nach Kobalt - und Röntgenbestrahlung einen auffallend parallelen Kurvenverlauf (Tab.II, Abb.Ia).

In der Leber ließ sich auch ein etwa paralleler Kurvenverlauf der Enzymänderungen nach beiden Bestrahlungsarten feststellen, wegen der großen Streuung der Einzelwerte war eine statistische Sicherung jedoch nicht möglich. (TabII, Abb.IIa).
In der Milz lagen die Aspartat - Aminotransferase-Werte bis zum 8. Tag wenig unter und am 10. Tag geringfügig über dem Ausgangswert (Tab.II,Abb. IIIa). Die Serumenzymaktivität der Aspartat - Aminotransferase stieg bis zum 6. Tag linear an, erreichte am 8. Tag wie nach der Röntgenbestrahlung eine signifikante Erhöhung und fiel am 10. Tag nach der Bestrahlung wieder unter den Ausgangswert zurück (Tab.II,Abb. IVa).

Alanin - Aminotransferase

1.) Ausgangswerte der unbestrahlten Tiere

Der Alanin - Aminotransferase - Mittelwert im Serum und in den untersuchten Organen lag im Vergleich zur Aspartat - Aminotransferase deutlich niedriger (Tab.I,II und III,IV). Im Serum wurde ein Alanin-Aminotransferase-Wert von 8 IE $\pm$ 2,2 ermittelt. Im Herzen wurde mit 9 IE $\pm$ 1,4 die höchsten, in der Milz mit 0,9 IE $\pm$ 0,4 die niedrigsten Aktivitäten gemessen. In der Leber fand sich ein Alanin - Aminotransferase-Wert von 7 IE $\pm$ 2,6.

Die Relation der Enzymaktivitäten in den einzelnen Organen betrug etwa:

Herz : Serum : Leber : Milz = 11 : 9 : 7 : 1

(Tab.III und IV).

2.) Nach Röntgenganzkörperbestrahlung zeigte die Alanin - Aminotransferase im Herzen einen signifikanten Abfall am 2. Tag, am 4. Tag einen geringen Anstieg über die Norm. Am 6. Tag wurde ein starker Abfall gefunden und auch am 8. und 10. Tag blieben die Werte stark erniedrigt (Tab.III,Abb.Ib).

In der Leber wurde am 4. Tag ein steiler Anstieg der Enzymaktivitäten gemessen, der signifikant war. Am 6. und 8. Tag normalisierten sich die Werte wieder. Am 10. Untersuchungstag zeigte sich ein höherer Anstieg über die Norm (Tab.II,Abb.IIb).

In der Milz war eine allgemeine Abnahme der Werte der Alanin - Aminotransferase zu erkennen. Mit Ausnahme des 8. Tages erreichten diese jedoch keine signifikante Sicherung (Tab.III,Abb.IIIb).

Auch im Serum wurde post radiationem eine allgemeine Enzymverminderung gegenüber den unbestrahlten Tieren gefunden (Tab.III,Abb.IVb).

3.) Nach Telekobaltganzkörperbestrahlung konnte im Herzen ein dem Kurvenbild nach Röntgenganzkörperbestrahlung entsprechender paralleler Verlauf festgestellt und der Wert am 6. Tag statistisch gesichert werden (Tab.IV,Abb.Ib).

In der Leber ergab sich im Vergleich zur Röntgenbestrahlung bei der Alanin - Aminotransferase ebenfalls ein paralleler Kurvenverlauf (Tab.IV,Abb.IIb). In den Milzhomogenaten ließ sich nach Telekobaltbestrahlung die gleiche Tendenz wie nach Röntgenbestrahlung feststellen, jedoch lagen die Werte leicht über den nach Röntgenbestrahlung gefundenen Enzymaktivitäten (Tab.IV,Abb.IIIb).
Im Serum zeigten sich bei beiden Bestrahlungsarten erniedrigte Enzymwerte. Am 6. Tag fand sich nach Telekobaltbestrahlung ein weiterer Abfall der Alanin - Aminotransferase, der nach einer mäßigen Erhöhung am 8. Tag am 10. Tag wieder eine Enzymabnahme erkennen ließ (Tab.IV,Abb.IVb).

Aspartat-Aminotransferase-Mittelwerte nach Röntgenbestrahlung

Tage n. Bestr.		Herz IE/mg Fg.	Leber IE/mg Fg.	Milz IE/mg Fg.	Serum IE/mg Fg.
0	n	9	9	9	9
	$\bar{x}$	194,63	63,53	17,62	45,75
	σ_x	18,30	12,22	3,28	12,80
2	n	11	11	10	11
	$\bar{y}$	189,88	71,20	17,89	39,44
	σ_y	26,16	6,26	3,17	9,35
	F^y	2,043	3,811	1,073	1,874
	t	0,476	Str.	0,182	1,233
	P	0,30		0,40	0,10
4	n	12	10	11	11
	$\bar{y}$	177,88	73,83	15,92	51,40
	σ_y	21,84	9,23	1,88	12,65
	F^y	1,424	1,755	3,035	1,023
	t	1,910	2,025	1,393	0,990
	P	0,03	0,03	0,10	0,20
6	n	12	11	11	7
	$\bar{y}$	185,83	48,42	17,24	32,69
	σ_y	17,21	7,45	2,92	4,45
	F^y	1,131	2,689	1,265	8,249
	t	1,119	1,101	0,271	Str.
	P	0,15	0,15	0,40	
8	n	11	9	11	8
	$\bar{y}$	169,43	40,77	20,01	71,24
	σ_y	1,51	7,56	3,76	18,77
	F^y	1,469	2,611	1,317	2,152
	t	4,124	4,761	1,522	3,232
	P	0,0005	0,0005	0,10	0,0005
10	n	11	10	10	11
	$\bar{y}$	181,83	47,52	20,26	35,10
	σ_y	14,86	4,27	2,00	13,25
	F^y	1,513	8,170	2,695	1,073
	t	1,693	Str.	2,095	1,822
	P	0,10		0,025	0,04

$F_{tab.} = 3,33$ (n=5) $\quad t_{tab.} = 2,0150$ (n=5)

$F_{tab.} = 3,07$ (n=8) $\quad t_{tab.} = 1,8595$ (n=8)

Tabelle I.

Aspartat-Aminotransferase-Mittelwerte nach Kobaltbestrahlung

Tage n. Bestr.		Herz IE/mg Fg.	Leber IE/mg Fg.	Milz IE/mg Fg.	Serum IE/mg Fg.
0	n	9	9	9	9
	$\bar{x}$	194,63	63,53	17,62	45,74
	σ_x	18,30	12,22	3,28	12,80
2	n	5	5	5	6
	$\bar{y}$	183,13	65,61	13,36	49,32
	σ_y	37,19	6,82	0,28	12,69
	F	4,128	3,212	38,500	1,016
	t	Str.	0,409	Str.	0,533
	P		0,35		0,30
4	n	6	7	7	6
	$\bar{y}$	221,43	73,79	15,10	52,03
	σ_y	10,30	7,85	2,04	11,07
	F	3,149	2,420	2,570	1,338
	t	3,617	2,040	1,895	1,028
	P	0,005	0,030	0,05	0,17
6	n	5	5	5	5
	$\bar{y}$	184,08	57,10	14,79	54,01
	σ_y	4,41	13,13	2,46	8,54
	F	17,212	1,155	1,777	2,243
	t	Str.	0,900	1,838	1,443
	P		0,20	0,07	1,10
8	n	7	7	6	6
	$\bar{y}$	173,78	44,01	16,36	72,14
	σ_y	11,14	3,82	2,82	7,45
	F	2,698	10,221	1,356	2,948
	t	2,814	Str.	0,797	5,000
	P	0,0125		0,25	0,0005
10	n	5	5	5	5
	$\bar{y}$	183,67	48,07	19,34	42,81
	σ_y	15,01	3,87	0,41	13,06
	F	1,487	9,969	64,358	1,043
	t	1,210	Str.	Str.	0,404
	P	0,15			0,35

$F_{tab.}$ = 3,33 (n=5) $t_{tab.}$ = 2,0150 (n=5)

$F_{tab.}$ = 3,07 (n=8) $t_{tab.}$ = 1,8595 (n=8)

Tabelle II.

Alanin-Aminotransferase-Mittelwerte nach Röntgenbestrahlung

Tage n. Bestr.		Herz IE/mg Fg.	Leber IE/mg Fg.	Milz IE/mg Fg.	Serum IE/mg Fg.
0	n	11	8	10	8
	$\bar{x}$	9,90	7,03	0,90	8,67
	σ_x	1,36	2,55	0,42	2,18
2	n	11	11	11	12
	$\bar{y}$	8,67	11,95	0,72	4,36
	σ_y	1,26	2,40	0,01	0,66
	F	1,173	1,131	1800,00	10,841
	t	2,321	4,278	Str.	Str.
	P	0,025	0,0005		
4	n	10	12	10	10
	$\bar{y}$	10,40	13,44	0,51	4,41
	σ_y	1,18	3,82	0,06	0,59
	F	1,332	2,229	52,631	13,359
	t	0,943	6,346	Str.	Str.
	P	0,20	0,0005		
6	n	12	11	11	7
	$\bar{y}$	3,89	7,12	0,57	6,94
	σ_y	0,44	1,49	0,10	0,88
	F	9,589	2,921	17,664	6,181
	P	Str.	0,09	Str.	Str.
			0,49		
8	n	11	10	11	10
	$\bar{y}$	4,00	7,12	0,57	7,29
	σ_y	0,76	0,81	0,30	0,98
	F	3,232	9,776	1,916	4,928
	t	Str.	Str.	1,941	Str.
	P			0,025	
10	n	11	9	11	10
	$\bar{y}$	4,44	11,32	0,65	6,23
	σ_y	1,10	0,50	0,09	1,08
	F	1,541	21,475	19,629	4,062
	t	10,705	Str.	Str.	Str.
	P	0,0005			

$F_{tab.}$ = 3,33 (n=5) $t_{tab.}$ = 2,0150 (n=5)
$F_{tab.}$ = 3,07 (n=8) $t_{tab.}$ = 1,8595 (n=8)

Tabelle III.

Alanin-Aminotransferase-Mittelwerte nach Kobaltbestrahlung

Tage n. Bstr.		Herz IE/mg Fg.	Leber IE/mg Fg.	Milz IE/mg Fg.	Serum IE/mg Fg.
0	n	11	8	10	8
	$\bar{x}$	9,90	7,03	0,90	8,67
	σ_x	1,36	2,55	0,42	2,18
2	n	6	5	5	5
	$\bar{y}$	7,55	11,79	0,73	4,53
	σ_y	0,86	0,79	0,01	1,02
	F^y	2,513	10,314	18,000	4,756
	t	4,519	Str.	Str.	Str.
	P	0,0025			
4	n	7	7	7	7
	$\bar{y}$	10,35	12,43	0,74	4,31
	σ_y	0,43	2,42	0,05	0,58
	F^y	8,543	1,112	731,70	14,129
	t	Str.	4,219	Str.	Str.
	P		0,0025		
6	n	6	5	6	6
	$\bar{y}$	5,14	7,86	0,72	2,59
	σ_y	0,92	0,64	0,01	0,22
	F^y	2,220	15,595	18,000	95,600
	t	8,815	Str.	Str.	Str.
	P	0,0005			
8	n	7	5	7	7
	$\bar{y}$	4,23	6,99	0,72	3,53
	σ_y	0,18	0,71	0,04	0,67
	F^y	56,006	12,754	105,88	10,505
	t	Str.	Str.	Str.	Str.
	P				
10	n	5	5	5	6
	$\bar{y}$	4,25	12,69	0,71	2,28
	σ_y	0,26	0,79	0,02	0,28
	F^y	27,629	10,396	360,000	58,292
	P	Str.	Str.	Str.	Str.

$F_{tab.}$ = 3,33 (n=5) $t_{tab.}$ = 2,0150 (n=8)
$F_{tab.}$ = 3,07 (n=5) $t_{tab.}$ = 1,8595 (n=8)

Tabelle IV.

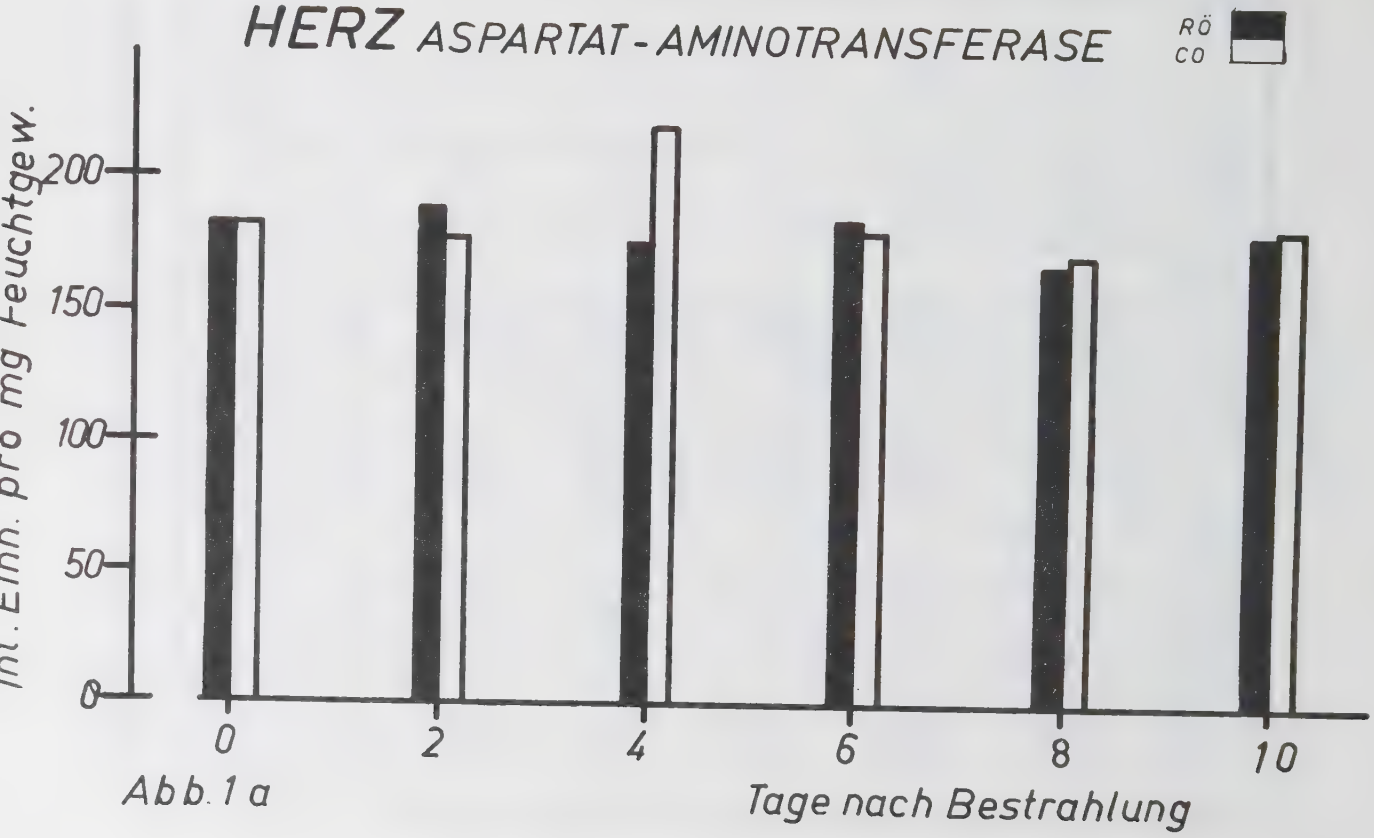

HERZ ASPARTAT-AMINOTRANSFERASE
RÖ
CO
Int. Einh. pro mg Feuchtgew.
200
150
100
50
0
0
2
4
6
8
10
Tage nach Bestrahlung

Abb. 1 a

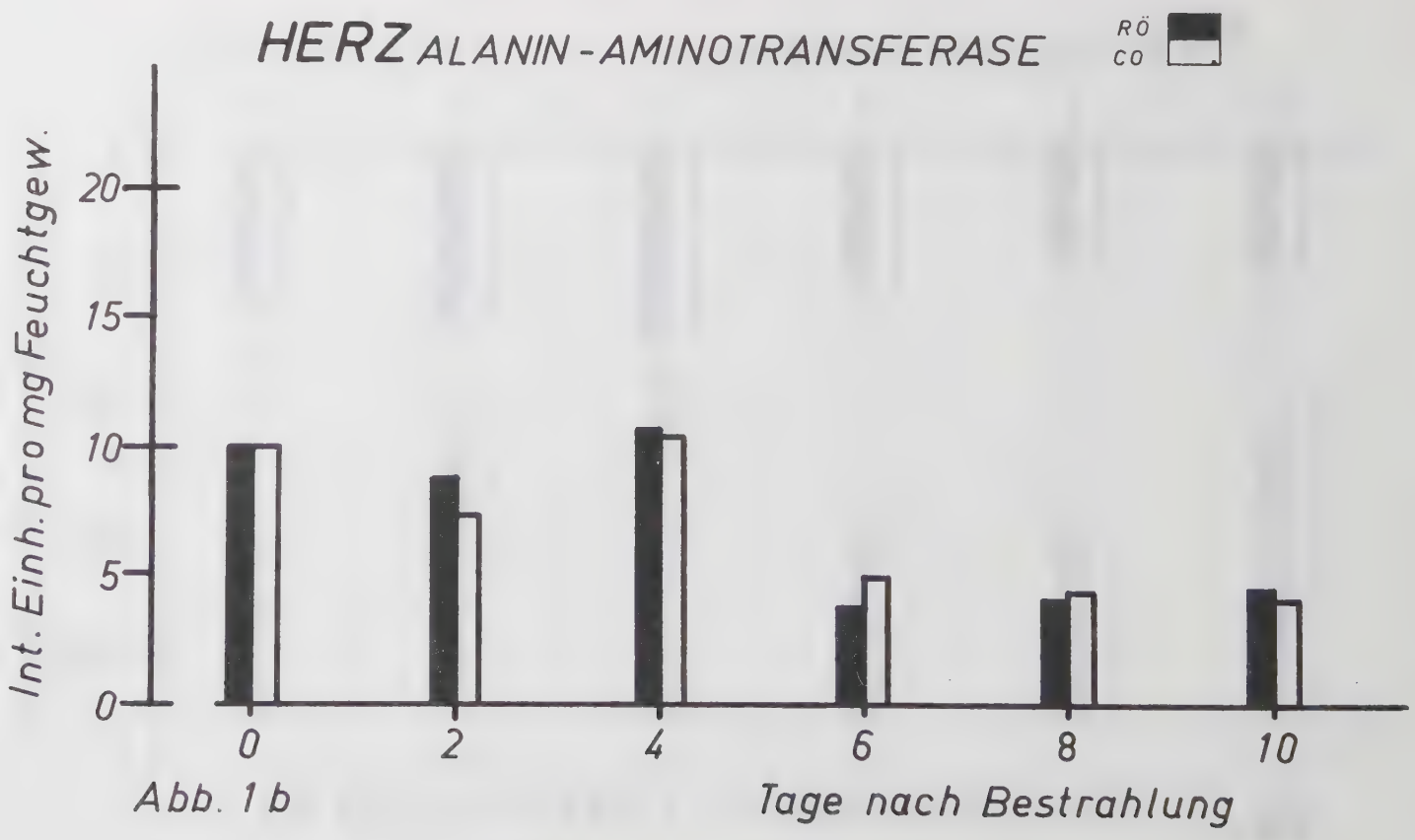

HERZ ALANIN-AMINOTRANSFERASE
RÖ
CO
Int. Einh. pro mg Feuchtgew.
20
15
10
5
0
0
2
4
6
8
10
Tage nach Bestrahlung

Abb. 1 b

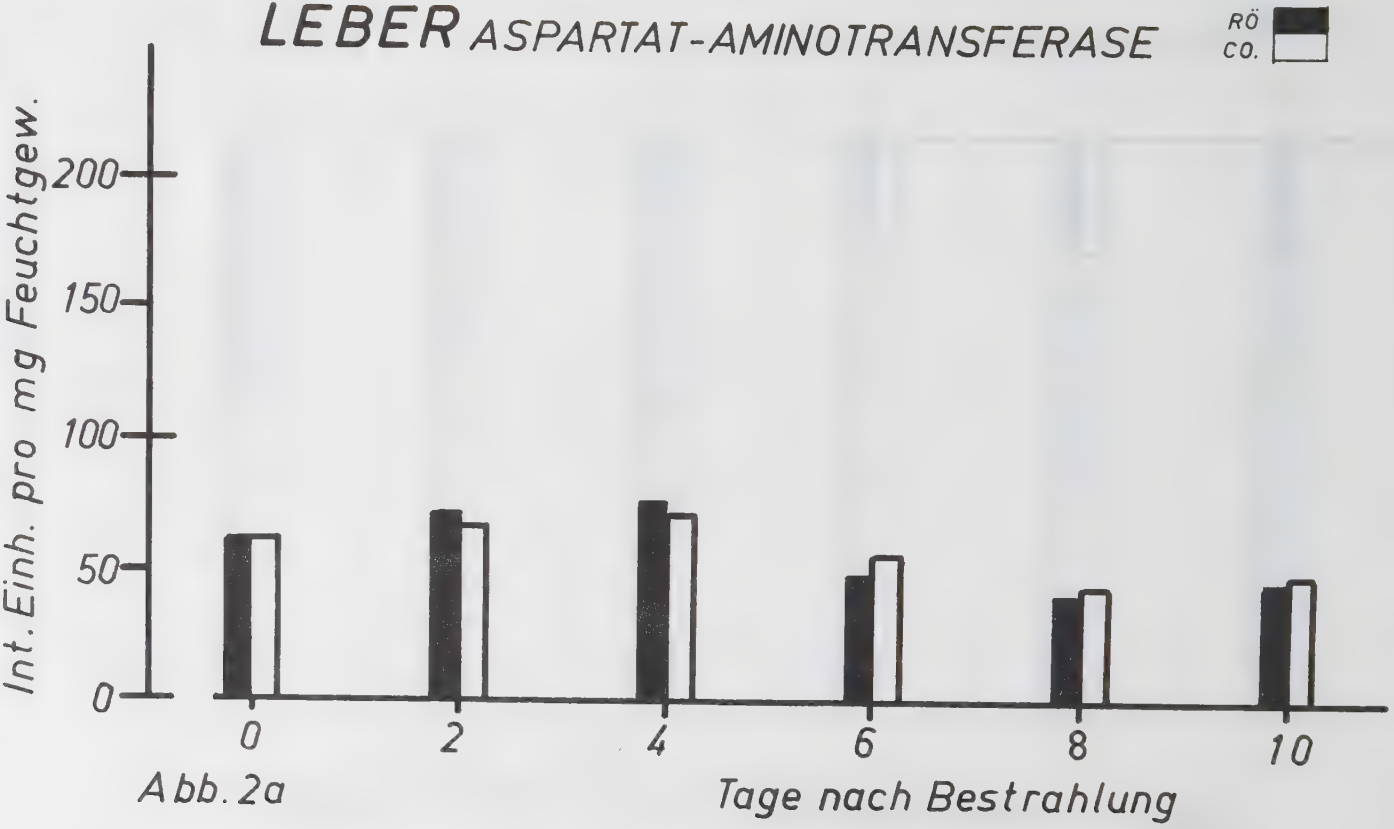

LEBER ASPARTAT-AMINOTRANSFERASE
RÖ
CO.
Int. Einh. pro mg Feuchtgew.
200
150
100
50
0
0
2
4
6
8
10
Tage nach Bestrahlung

Abb. 2a

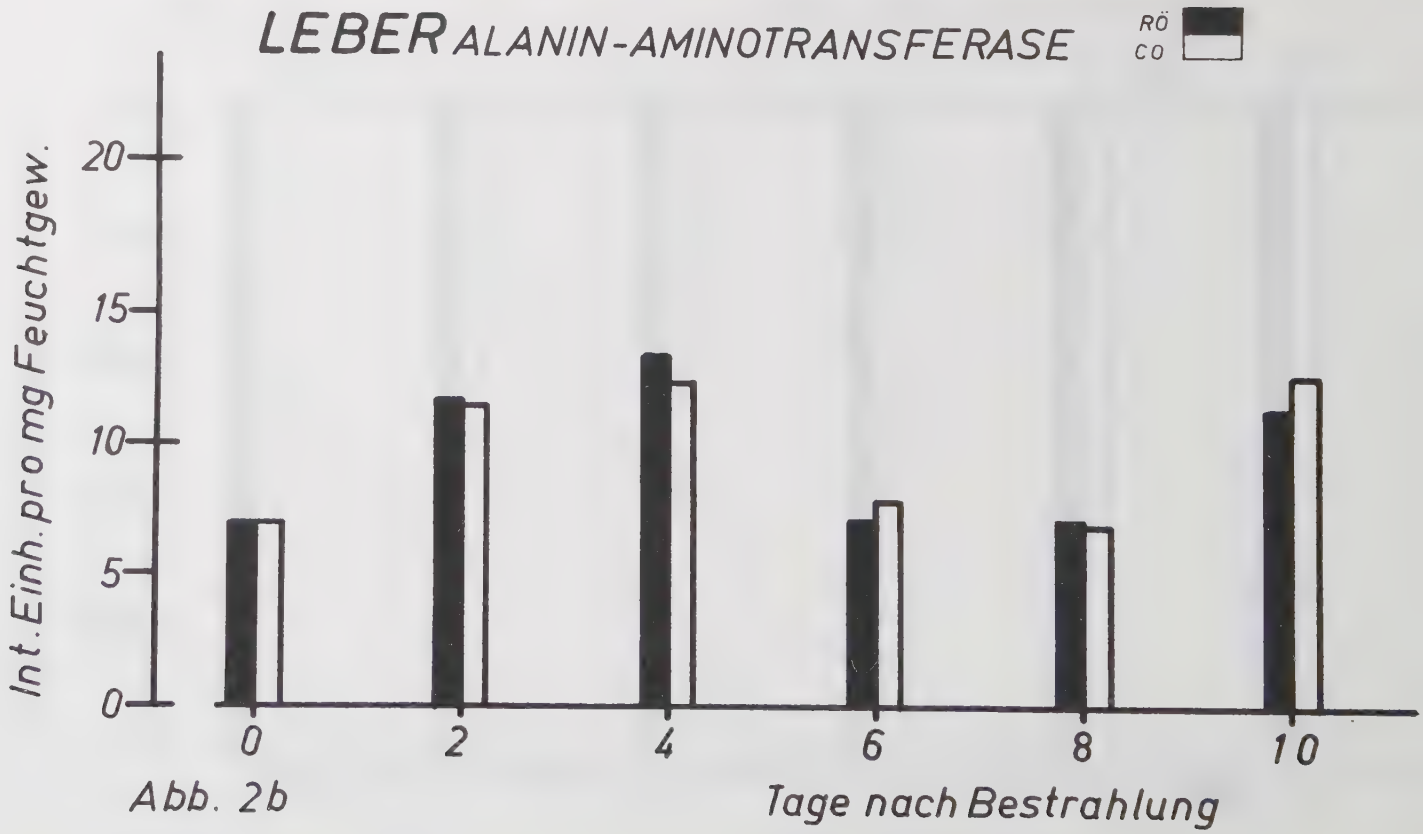

LEBER ALANIN-AMINOTRANSFERASE
RÖ
CO
Int. Einh. pro mg Feuchtgew.
20
15
10
5
0
0
2
4
6
8
10
Tage nach Bestrahlung

Abb. 2b

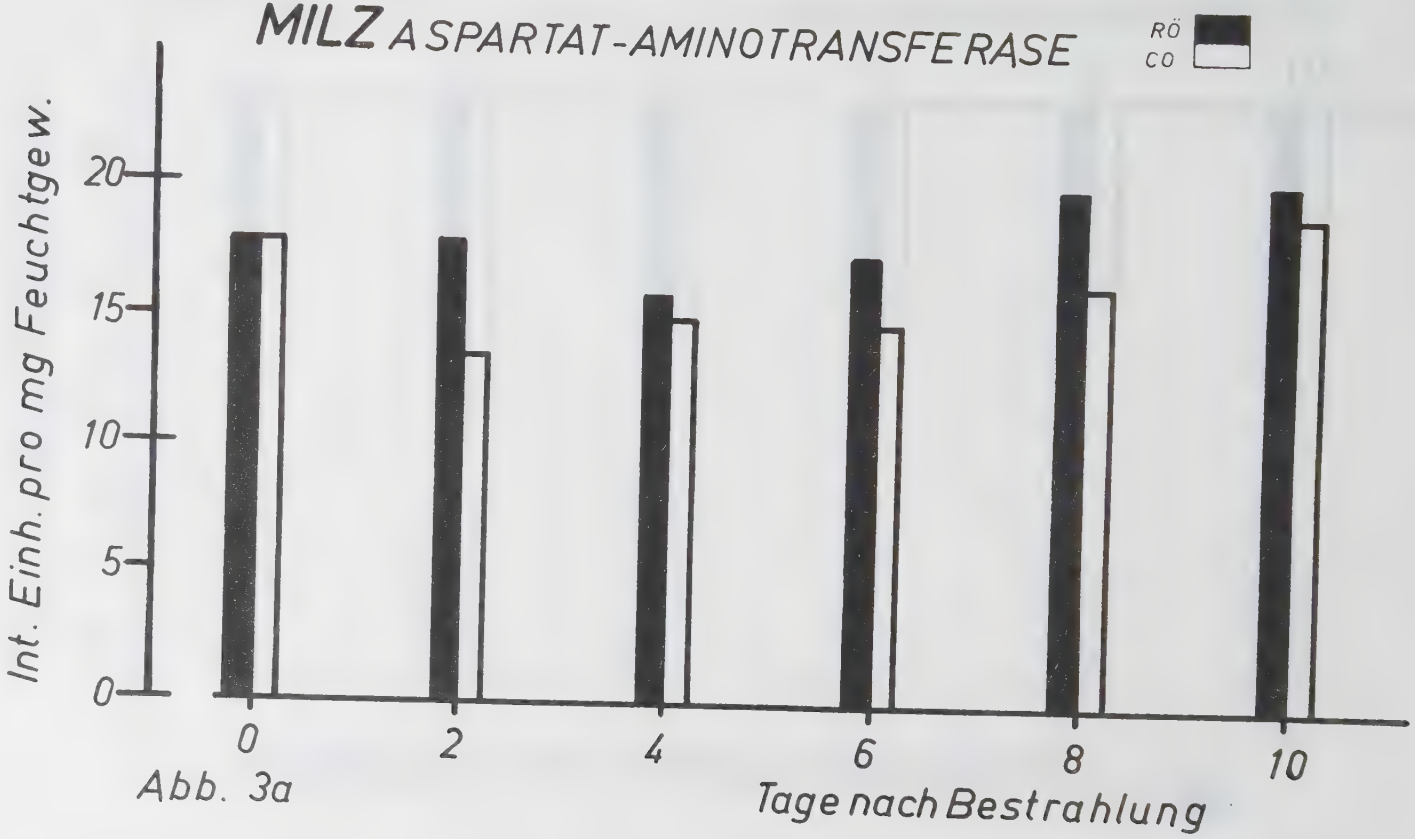

MILZ ASPARTAT-AMINOTRANSFERASE
RÖ
CO
Int. Einh. pro mg Feuchtgew.
20
15
10
5
0
0
2
4
6
8
10
Tage nach Bestrahlung

Abb. 3a

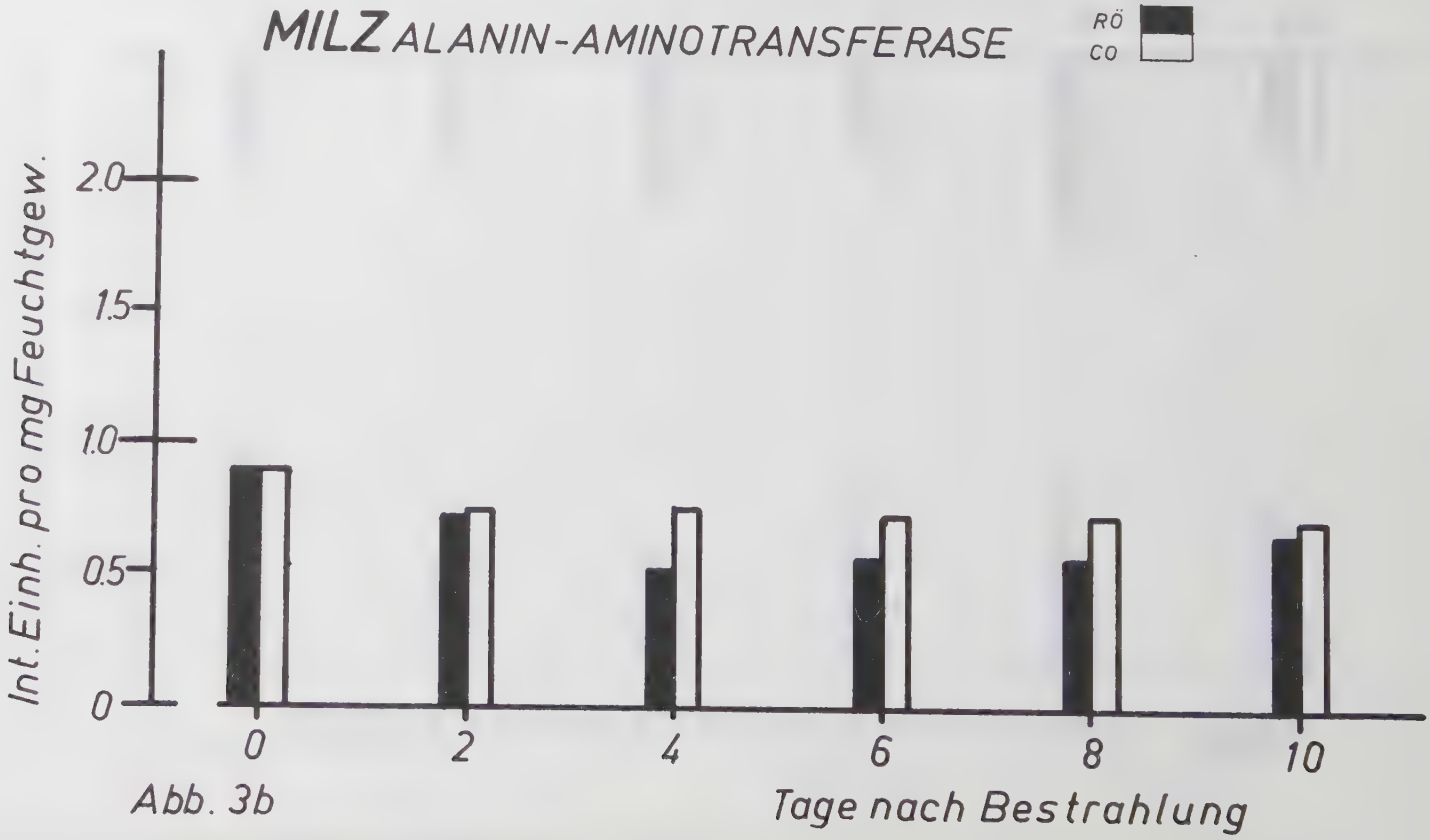

MILZ ALANIN-AMINOTRANSFERASE
RÖ
CO
Int. Einh. pro mg Feuchtgew.
2.0
1.5
1.0
0.5
0
0
2
4
6
8
10
Tage nach Bestrahlung

Abb. 3b

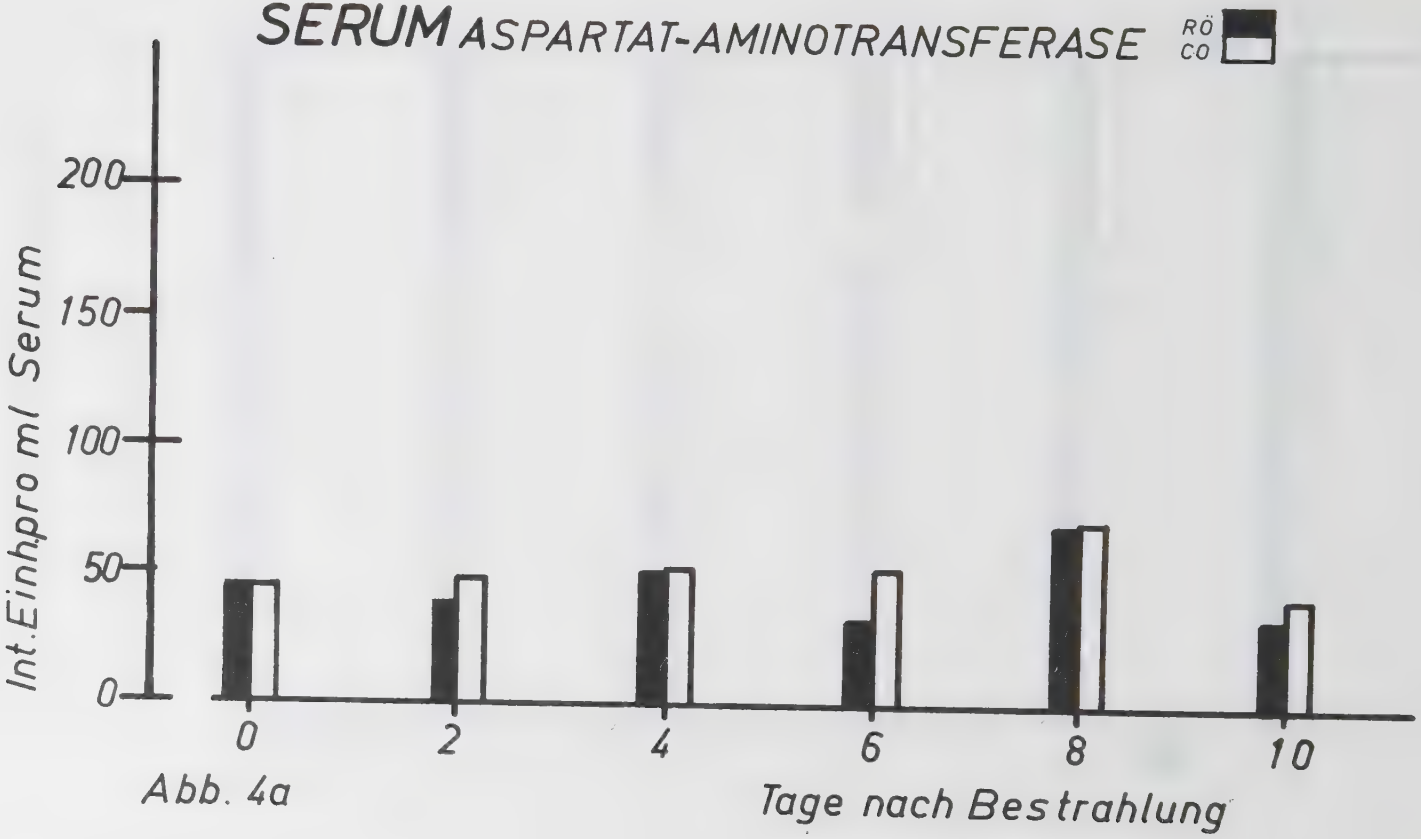

SERUM ASPARTAT-AMINOTRANSFERASE
RÖ
CO
200
150
100
50
0
Int.Einh.pro ml Serum
0
2
4
6
8
10
Tage nach Bestrahlung

Abb. 4a

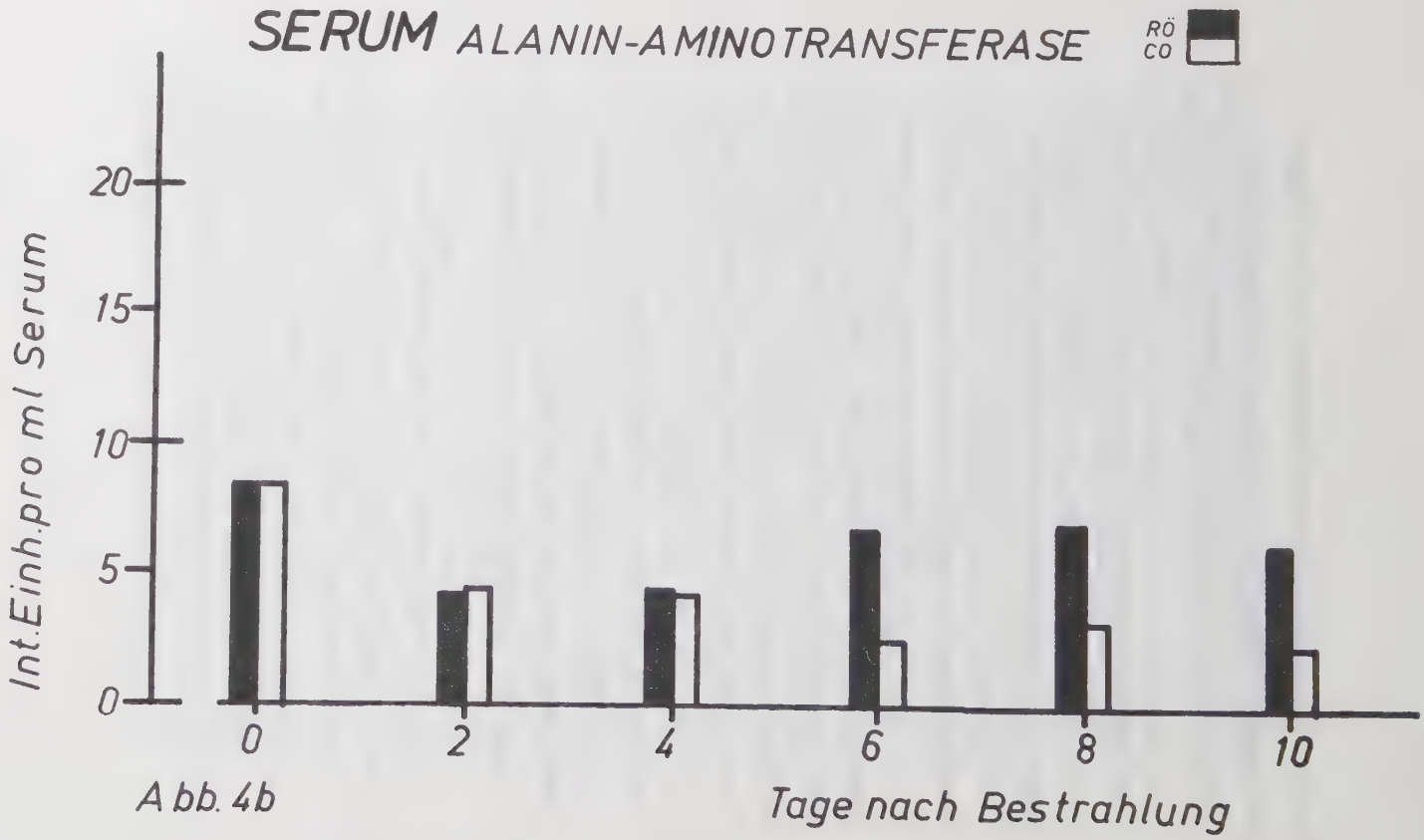

SERUM ALANIN-AMINOTRANSFERASE
RÖ
CO
Int.Einh.pro ml Serum
20
15
10
5
0
0
2
4
6
8
10
Tage nach Bestrahlung

Abb. 4b

DISKUSSION

Enzymänderungen sind empfindliche Indikatoren für lokalisierte und disseminierte Organschädigungen. Daher stellen vergleichende Enyzmaktivitätsmessungen im cytoplasmatischen und intravasalen Raum eine geeignete Methode dar, um die Einwirkung ionisierender Strahlen auf den lebenden Organismus zu prüfen.

Im Gegensatz zu anderen Autoren (AMELUNG und HORN, HESS) wurden die Versuchstiere nur einer einmaligen Röntgen- und Telekobaltganzkörperbestrahlung unterworfen, um Interferenzkurven älterer und frischerer Strahlenschäden auszuscheiden, wie sie bei einer fraktionierten Bestrahlung unvermeidlich sind. Nach Einwirkung einer einmaligen Ganzkörperbestrahlung sowohl mit Kobalt-60 als auch mit Röntgenstrahlen wurden im Serum und in den Organhomogenaten statistisch signifikante Enzymveränderungen gefunden, wie sie auch von GERLACH, AMELUNG und HORN und HESS beschrieben wurden. Jedoch liegen über Ausmaß, Richtung und Zeitpunkt der Enzymaktivitätsschwankungen sehr unterschiedliche Ergebnisse vor, welche sich nicht vollkommen durch differierende Versuchsanordnungen erklären lassen.

Im Serum röntgenganzkörperbestrahlter Ratten fanden BRAUN, HORNUNG und NEUMAYER sowie OSWALD, GÜNTHER und LORENZ eine Erniedrigung sowohl der Aspartat - Amino-

transferase- als auch der Alanin - Aminotransferase-Aktivitäten. Dieses Absinken der Enzymaktivitäten der Aminotransferasen wird dadurch erklärt, daß es durch die Strahleneinwirkung zu einer Fibrosierung und somit zur Verminderung der Permeabilität der Zellmembran kommt, die den Austritt der Enzyme ins Blut verhindert.

Andererseits berichten MILCH und ALBAUM über einen Anstieg der Aspartat - Aminotransferase-Aktivität bei bestrahlten Ratten im Serum. Die Enzymaktivitätszunahme im Blutserum wird auf das Einströmen von Enzymen aus den stark geschädigten, nekrotischen Zellen ins Blut zurückgeführt. Im Gegensatz zu dieser mechanischen Auffassung wird die Aktivitätszunahme von HAUSS im Sinne der vegetativen Gesamtumschaltung interpretiert und in ihr lediglich ein weiteres Symptom des akuten Syndroms gesehen, zu dem auch die bekannten Symptome wie Fieber, Leukozytose, BSG-Beschleunigung zählen.

Nach den neueren Hypothesen der enzymkinetischen Mechanismen jedoch ist der Serum-Enzymspiegel als Fließgleichgewicht aufzufassen, das vom Enzymausstrom aus dem cytoplasmatischen Raum und von der intravasalen Inaktivierung bestimmt wird. Dabei spielen aktive Elimination und intravasale Aktivierung eine zu vernachlässigende Rolle. Daraus geht hervor,

daß signifikant erniedrigte Enzymaktivitäten sich durch eine intravasale Inaktivierung erklären lassen. Eine entsprechende Kurve mit biphasischem Aktivitätsverlauf, wobei der erste steilere Abfall der Enzymelimination zwischen 4. und 6. Tag liegt, wurde von AMELUNG gefunden. Auch die hier ermittelten Ergebnisse bei der Aspartat - Aminotransferase bestätigen diese Auffassung, während bei der Alanin - Aminotransferase im Rattenserum dies nicht so deutlich zu Tage tritt, weil wahrscheinlich die weitaus geringere Enzymaktivität der Alanin - Aminotransferase im Serum die Genauigkeit der Meßwerte beeinträchtigt.

HESS postuliert als Ursache für den Enzymausstrom aus dem cytoplasmatischen in den intravasalen Raum eine Diffusion entlang dem Konzentrationsgefälle infolge einer Zellmembranlockerung durch Hemmung der oxydativen Phosphorylierung nach Einwirkung ionisierender Strahlen.

Der bei diesen Untersuchungen ermittelte Aktivitätsverlauf ist danach als Interferenzkurve einer intravasalen Inaktivierung und dem einsetzenden Enzymausstrom aus dem cytoplasmatischen Raum anzusehen. Diese enzymkinetische Hypothese wird durch die Meßwerte sowohl der Aspartat - als auch der Alanin - Aminotransferase in den Leberhomogenaten bestätigt.

Der Enzymanstieg in den ersten Tagen post radiationem bildet hierzu nur einen scheinbaren Widerspruch, denn der Hauptanteil der zellulären Enzyme ist intramitochondrial lokalisiert. Da nun die Mitochondrien als die empfindlichsten zellulären Partikel gegenüber schädigenden Einflüssen am wenigsten widerstandsfähig sind, kommt es primär zu einem Enzymausstrom aus dem intramitochondrialen in den cytoplasmatischen Raum, um erst sekundär nach einer gewissen Latenzzeit im Serum zu einer Aktivitätserhöhung zu führen.
Auch in der Milz zeigt sich eine entsprechende Erniedrigung der Alanin - Aminotransferase, wohingegen die Aspartat - Aminotransferase eine Aktivitätszunahme erkennen läßt. Dies wäre dadurch zu erklären, daß die sehr hohe Gesamtenzymaktivität der Aspartat - Aminotransferase im endoplasmatischen Retikulum trotz hohen Enzymausstroms in den intravasalen Raum nicht zu einer meßbaren Aktivitätsabnahme im intrazellulären Raum führen muß.
Die gefundenen Werte in den Herzhomogenaten entsprechen ebenfalls den genannten enzymkinetischen Hypothesen.
Das ähnliche Enzymverhalten in den Organen an den einzelnen Tagen sowohl nach Röntgen- als auch nach Telekobaltbestrahlung läßt darauf schließen, daß beide Bestrahlungsarten etwa gleiche Organ- und damit Zelläsionen hervorrufen.

ZUSAMMENFASSUNG

Bei 110 weißen Wistar-Ratten wurden am 2., 4., 6., 8. und 10. Tag nach Röntgen- bzw. Telekobaltganzkörperbestrahlung die Enzymaktivitäten der Aspartat - Aminotransferase und der Alanin - Aminotransferase in Serum, Leber-, Milz- und Herzhomogenaten gemessen, nachdem vorher die Normalwerte bei 30 Ratten bestimmt worden waren. Dabei zeigten sich unterschiedliche Enzymänderungen in den einzelnen Organen. Es wurde festgestellt, daß die ermittelten Enzymaktivitätsveränderungen als Interferenzkurven der intravasalen Inaktivierung und dem post radiationem einsetzenden Enzymausstrom aus dem cytoplasmatischen Raum aufzufassen sind.

Die gefundenen Werte in Serum und Organhomogenaten zeigten entsprechend gut korrespondierende Werte. Darüberhinaus zeigte sich auf Grund der Enzymaktivitäten kein Anhalt für eine unterschiedliche Wirkung der beiden Strahlenarten auf das tierische Gewebe.

L I T E R A T U R

1. AMELUNG, D. — Fermentdiagnostik bei Gallen- und Lebererkrankungen. Klin. Wschr. 36 (1958) 496

2. AMELUNG, D. und H. D. HORN — Fermentaktivitäts-Bestimmungen im Serum bei Herzinfarkt. Dtsch. Med. Wschr. 81 (1956) 1701

3. ANDREWS, H. L. und K. C. BRACE — aus: Strahlenbiologie, Strahlentherapie, Nuklearmedizin und Krebsforschung. Thieme-Verlag, Stuttgart (1952 - 58) 602

4. BETZ, E. H. — aus: Strahlenbiologie, Strahlentherapie, Nuklearmedizin und Krebsforschung. Thieme-Verlag, Stuttgart (1952 - 58) 600

5. BRAUN, H. G. HORNUNG und E. R. HEISE — Die Wirkung der Röntgenganzkörperbestrahlung auf die Fermentaktivität der Leucinamino-Peptidase, der Glutamat-Oxalat- und Glutamat-Pyruvat-Transaminase in verschiedenen Organen bei Mäusen. Strahlentherapie 122 (1963) 211

6. BRAUN, H.
G. HORNUNG und
M. NEUMAYER
Aktivitätsänderungen der Glutamat-Oxalat-Transaminase und der Glutamat-Pyruvat-Transaminase in Herz, Leber, Niere und im Serum von ganzkörperbestrahlten Ratten.
Strahlentherapie 126 (1965) 454

7. BRENT, R. L.
Mc LAUGHLIN, M.M.
und J.N.STABILE
The Effect of Irradiation on the Serum Glutamatic-Oxalacetic Transaminase Level.
Radiation Res. 9 (1958) 24

8. BRUNS, F. und
W. JAKOB
Studien über Serumenzyme bei Erkrankungen der Leber.
Klin. Wschr. 32 (1954) 1042

9. COLOMBO, J. B.
R. RICHTERICH
und E. ROSSI
Serum-Kreatin-Phosphokinase-Bestimmung und diagnostische Bedeutung.
Klin. Wschr. 1 (1962) 37

10. DIETHELM, L.
und W. LORENZ
Über Unterschiede in der Reparation der strahlengeschädigten Rattenmilz. Eine histologische und cytologische Studie am 2. und 8. Tag nach 600-R-Röntgenganzkörperbestrahlung und zehntägiger Vorbestrahlung mit täglich 3 R.
Strahlentherapie 122 (1963) 222

11. DREYFUS, J. C. und G. SCHAPIRA
Enzymes musculaires et sériques en pathologie musculaire.
Verh. 6. Internat. Kongr. Inn. Med. Verlag Schwabe & Co. Basel-Stuttgart (1961)

12. FORSTER, G. und J. ESCHER
Die Kreatin-Phosphokinase in der Diagnostik von Herzinfarkt und Myopathien.
Helvet. Med. Acta 28 (1961) 513

13. GERLACH, U.
Pathologischer Übertritt von Sorbitdehydrogenase ins Blut bei Lebererkrankungen.
Klin. Wschr. 35 (1957) 1144

14. HAUSS, W. H.
Über den Einfluß von Röntgenganzkörperbestrahlungen auf die Aktivität der Milchsäure-Dehydrogenase sowie Glutaminsäure-Transaminase und Brenztraubensäure-Transaminase im Blutserum bei Ratten.
Strahlentherapie 109 (1959) 331

15. HESS, B.
Untersuchungen über die Heterogenität der Serumfermente und ihre Verwendung als organspezifische Indikatoren zellulärer Funktionen.
Klin. Wschr. 36 (1958) 985

16. HINZ, G. und M. KESSEL
Der Einfluß von Röntgenganzkörperbestrahlung auf die Lipoproteide und Proteine. Fortschritte auf dem Gebiet der Röntgenstrahlen und der Nuclearmedizin 92 (1960) 441

17. HÖHNE, G. R. JASTER und H. KUNKEL
Elektrophoretische Untersuchungen im Serum röntgenbestrahlter Ratten. Klin. Wschr. 30 (1952) 952

18. KARMEN, A. F. WROBLEWSKI und J.S.LA DUE
Transaminase Activity in human blood. J. Clin. Invest. 34 (1955) 126

19. KÄRCHER, K. H.
Klinisch-biologische Untersuchungen während der Telekobalt-Tiefentherapie. Strahlentherapie 125 (1964) 431

20. MILCH, L. J. und H. G. ALBAUM
Serum Transaminase Activity in X-Irradiated Rabbits. Proc.soc.Exper.Biol.Med. 93 (1956) 595

21. OSWALD, H. P. G. GÜNTHER und W. LORENZ
Über den Einfluß der Röntgenganzkörperbestrahlung auf die Aktivität der Milchsäuredehydrogenase sowie GOT und GPT im Blutserum bei Ratten. Strahlentherapie 109 (1959) 331

22. RAPPOPORT, D. A. aus: Strahlenbiologie, Strahlentherapie, Nuklearmedizin und Krebsforschung. Thieme-Verlag, Stuttgart (1952 - 58) 601

23. REICHARD, H. A New Specific Liver Test. Determination of Ornithine Carbamyl Transferase in Human Serum. Scand.J.clin.Lab.Invest. 2 (1957) 103

24. SCHMIDT, E. F. W. SCHMIDT und E. WILDHIRT Zum Enzymmuster der Leber bei Posthepatitischer Hyperbilirubinämie. Klin. Wschr. 37 (1959) 1229

25. STENDER, H. S. und O. ELBERT Tierexperimentelle Untersuchungen über die Beeinflussung des Serumeiweißbildes durch eine Ganzbestrahlung mit 500 und 1000 R. Strahlentherapie 89 (1952) 275

26. STICH, W. und A. TSIRIMBAS Enzymdiagnostik des Herzinfarkts. Internist 2 (1961) 592

27. WINKLER, C. und G. PASCHE — Protein Content and Composition of Rat Serum as Related to Amount of Whole-Body-X-Irradiation. Radiation Res. 5 (1956) 156

28. WROBLEWSKI, F. A. KARMEN und J. S. LA DUE — Serum Glutamatic Oxalacetic Transaminase Activity in Human Acute Transmural Myocardial Infarction. Science 120 (1954) 497

29. WROBLEWSKI, F. und J. S. LA DUE — Serum Glutamatic Pyruvic Transaminase in Cardiac and Hepatic Disease. Proc.Soc.exp.Biol.Med. 91 (1956) 569

Herrn Professor Dr. med. H. B R A U N danke ich für die Überlassung des Themas und für das dieser Arbeit entgegengebrachte Interesse, Herrn Dr. med. G. H O R N U N G für seine freundlichen und wertvollen Ratschläge.

Herrn Professor Dr. med. H. A. K Ü H N bin ich für die freundliche Übernahme des Korreferates zu Dank verpflichtet.

LEBENSLAUF

Am 25. Juli 1940 wurde ich als Tochter des Oberzahlmeisters Ulrich Lange und seiner Ehefrau Olga, geborene Bäumler, in München geboren.
1947 wurde ich in München in der DOM-PEDRO-SCHULE eingeschult, besuchte dann die St. WINTHIR-SCHULE und von 1950 bis zum Abschluß der Volksschule die MARTIN-LUTHER-SCHULE in Meiningen/Thür.
Nach vierjährigem Besuch der Henfling-Oberschule in Meiningen legte ich 1959 die Reifeprüfung ab.
Im Herbstsemester 1959 begann ich an der Humboldt-Universität zu Berlin mein Medizinstudium. Dort legte ich im Sommer 1960 die naturwissenschaftliche Vorprüfung ab. Im März 1963 legte ich die ärztliche Vorprüfung, im Juli 1966 das medizinische Staatsexamen an der Maximilians-Universität in Würzburg ab.
Nach zweijähriger Tätigkeit als Medizinalassistentin erhielt ich am 1. 3. 1969 die ärztliche Bestallung.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsquellen benutzt habe.
Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich bisher von keiner anderen Seite ein Dissertationsthema zur Bearbeitung erhalten habe.

Helga Möll

Schnelldruck - Böhler, 87 Würzburg, Wirsbergstraße 10